

· 综述 ·

成血管-成骨耦联相关因子、细胞在骨中作用机制的研究进展

申震¹ 姜自伟^{2*} 陈国茜¹ 李定¹ 张严¹ 李紫阁¹ 黄枫²

1.广州中医药大学第一临床医学院,广东 广州 510405

2.广州中医药大学第一附属医院骨伤科,广东 广州 510405

中图分类号: R68 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2020) 03-0458-06

摘要: 血管生成与骨生成是促进骨骼生长发育和维持骨量平衡不可或缺的部分,二者之间的耦联作用贯穿骨发育和重塑的整个过程,在新骨生成、骨折愈合、骨缺损修复以及骨质疏松症防治等方面的机制中扮演重要角色。其中血管内皮细胞和血管内皮生长因子等生物活性成分是成血管-成骨耦联中的关键部分,尤其是近些年特异性H型血管的发现丰富了成血管-成骨耦联内容,加深了对二者耦联作用的了解。血管与骨联系密切而又相互作用,血管对于骨骼的意义不仅体现在为骨生长和修复发挥运输氧气、营养物质、生长因子及代谢废物的作用,更为重要的是分泌因子、信号传递、功能调控等方面,而成骨细胞能够分泌或促进分泌血管内皮生长因子等促血管生成因子,对血管生成具有调节作用。故笔者就成血管-成骨耦联相关因子、细胞及机制在骨中所起的作用进行综述。

关键词: 血管生成;骨生成;H型血管;细胞;生长因子;耦联机制

Research progress in the mechanism of angiogenic-osteogenic coupling-related factors and cells in the boneSHEN Zhen¹, JIANG Ziwei^{2*}, CHEN Guoqian¹, LI Ding¹, ZHANG Yan¹, LI Zige¹, HUANG Feng²

1.The First Clinical Medical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405

2.Department of Orthopedics and Traumatology, the First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China

* Corresponding author: JIANG Ziwei, Email: ainemyly@163.com

Abstract: Angiogenesis and osteogenesis are essential parts of bone development. The regeneration and angiogenic-osteogenic coupling exist through the whole process of bone formation and remodeling, which play important roles in the mechanisms such as new bone formation, fracture healing, bone defect repair, and osteoporosis. Vascular endothelial cells, vascular endothelial growth factors, and other factors are key parts in angiogenic-osteogenic coupling. Especially in recent years, the discovery of specific H-type blood vessel enriches the content of vascular-osteogenesis coupling and deepens the understanding of the coupling. Blood vessels and bones are closely related and interacted with each other. The significances of blood vessels to bones are not only the transmission of bone-transferring substances, but also the secretion of factors, signal transmission, function regulation, and so on. Bone related cells can secrete or promote the secretion of vascular endothelial growth factor and other angiogenic factors, which regulate angiogenesis. Therefore, this present paper summarizes the role of angiogenic-osteogenic coupling-related factors, cells, and their mechanisms in the bone.

Key words: angiogenesis; osteogenesis; H-type blood vessel; cells; growth factors; coupling mechanism

骨是一种高度血管化的组织,在整个机体生命周期中经历着持续的吸收和重建过程,而在此过程

中血管内皮细胞(endothelial cells, ECs)和骨细胞之间在空间和时间上密切连接以保持骨骼的完整性^[1]。血管生成是各类器官发生中最早的事件之一^[2],骨血管系统在骨骼发育、重塑以及维持骨量平衡中均起着重要作用^[3-8]。在骨生长发育和修复期间,新血管生成是重要的环节,二者都涉及血管生

基金项目: 国家自然科学基金(81774337, 81603640, 81403413);广东省自然科学基金(2014A030310379)

* 通信作者: 姜自伟, Email: ainemyly@163.com

成和骨生成信号途径之间的激活和复杂的相互作用,而血管生成发生在骨生成之前^[9],且新生血管可确保循环成骨细胞前体和破骨细胞转运至特定部位^[10]。这说明骨生成是一个血管依赖性过程,血管生成与骨生成空间和时间上密切的关系被称为“成血管-成骨耦联”作用^[3,11-12]。近年来随着科学技术的发展,研究发现骨内微小血管生成和骨内微环境在成骨和骨量维持等方面同样扮演着重要角色^[13]。据报道^[14],骨内还存在两种具有不同形态、功能和空间分布的特异性血管 ECs 亚型,即对血小板内皮细胞粘附分子-1 (platelet endothelial cell adhesion molecule-1, CD31/PECAM-1) 和内皮粘蛋白 (endomucin, Emcn) 高表达的 H 型 ECs (CD31^{hi} Emcn^{hi}) 以及对 CD31 和 Emcn 低表达的 L 型 ECs (CD31^{lo} Emcn^{lo})。其中 H 型 ECs 在介导血管生成和骨生成耦联过程中起着重要作用, H 型血管不仅可向骨组织供应营养物质、生长因子、激素、趋化因子和细胞因子以及传输代谢废物,还充当了骨骼和邻近组织之间的交流网络^[15],由 H 型血管释放的血管分泌因子传递信号调控着骨生长和骨稳态,并进一步增强血管生成和骨生成间的相互联系^[14,16]。这不仅丰富了血管与骨相互作用间的内容,还为探究成血管-成骨耦联机制提供了新的研究方向。故本文就成血管-成骨耦联相关因子、细胞及机制在骨中所起的作用进行综述。

1 成血管-成骨耦联调节因子

1.1 血管内皮生长因子

血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 是目前研究最多且是已知的诱导血管生成最强的一种细胞因子,是促进血管生成相关的分子和细胞级联反应中的关键调节剂^[17]。虽然 VEGF 主要作用于 ECs,但也可与成骨细胞等其他类型细胞上的 VEGF 受体相结合^[18-19],最终通过血管发生、血管生成或淋巴管系统形成等形式促进血管系统的发育^[20-21]。然而,VEGF 不仅对血管生成具有重要作用,在骨生长发育过程中同样扮演重要角色^[22-23]。一方面 VEGF 自身就具有促进成骨的能力,既能调节成骨细胞的趋化性、增殖和分化,调控成骨细胞的活性从而对成骨产生直接作用^[24];另一方面又能调节间充质细胞向成骨细胞分化,或通过血管生长机制刺激 ECs 产生成骨细胞因子,促进祖细胞向成骨细胞分化而发挥间接作用^[25]。Geiger 等^[24]发现处于生长阶段长骨中的血管尚未完全形

成之前均能检测到 VEGF 的表达,并且该表达与骨生成过程有关。与此同时,VEGF 还具有趋化作用可使骨髓间充质干细胞向骨缺损区域富集,通过促进血管生成、软骨吸收以及软骨内成骨的分化来促进新骨生成。而当抑制 VEGF 表达或 VEGF 表达降低时,则会导致成骨障碍或骨量丢失。VEGF 及其相关血管对骨生成发挥重要作用,但血管网络的生长又受成骨细胞所提供的信号调控^[14]。VEGF 通过直接或间接作用于成骨细胞促进骨的生长发育,而成骨细胞又能分泌 VEGF 等因子反作用调控血管生成^[26]。Huang 等^[27]在小鼠及体外细胞实验中证实了成骨细胞尚能分泌趋化因子 Cxcl-9 (C-X-C motif ligand-9) 调节血管生成, Cxcl-9 能与 VEGF 相互作用并阻止其与 VEGF 受体结合,继而阻止 VEGF 与 ECs 和成骨细胞结合,从而抑制血管生成和骨生成。因此,减少骨内 Cxcl-9 含量,增加骨内血管生成,从而为骨生成和再生提供了新的作用靶点。而 VEGF 与成骨细胞间的相关作用也正是成血管-成骨耦联作用的一种体现。

1.2 血小板衍生生长因子-BB

血小板衍生生长因子-BB (platelet-derived growth factor, PDGF-BB) 在骨生成过程中由脱颗粒化血小板释放。据报道^[28],PDGF-BB 既能通过上调 VEGF 而刺激血管生成,又可通过对成骨细胞施加趋化性和促有丝分裂信号促进成骨。Xie 等^[29]在研究中发现位于骨膜处的破骨前体细胞可分泌 PDGF-BB,一方面 PDGF-BB 可刺激内皮祖细胞和 MSCs 的迁移,并促进血管生成^[30]。另一方面 PDGF-BB 被认为是能够调动间充质来源细胞,稳定新生血管并协调成骨细胞分化的细胞成分^[31]。除此之外,PDGF-BB 可诱导 H 型血管生成以促进血管生成与骨生成之间的耦联作用^[29]。研究发现,在骨膜骨中 PDGF-BB 诱导 H 型血管生成并刺激 1-磷酸鞘氨醇 (sphingosine 1 phosphoric acid, S1P) 分泌以促进成骨细胞分化,继而促进新骨生成;在骨小梁重塑过程中,PDGF-BB 同样诱导生成 H 型血管,但在骨重塑期间主要发挥物质传输作用。

1.3 转化生长因子-β

转化生长因子-β (transforming growth factor-β, TGF-β) 是一种多效能生长因子,具有促进细胞增殖、调节细胞分化、调控细胞周期及诱导细胞凋亡等作用,同时可刺激细胞外基质分泌与沉积,在骨生成与血管生成方面扮演重要角色^[32]。Tang 等^[33]首先证实了 TGF-β 是一种重要的趋化募集因子,参与

MSCs的募集和增殖,不仅可调节成骨细胞分化,还可促进成骨细胞前体向骨重塑部位转移。与此同时,TGF- β 促进成骨细胞的新陈代谢和细胞外基质的合成,通过抑制破骨细胞的生成和成熟破骨细胞的活性,实现抑制骨吸收和促进成骨的目的。除了在成骨方面的重要作用,TGF- β 还可调节造血细胞和血管ECs中VEGF的表达,从而在成骨过程中对血管化进程产生积极影响,继而加强血管生成与骨生成之间的耦联关系^[34]。

1.4 低氧诱导转录因子-1 α

低氧诱导转录因子-1 α (hypoxia-inducible transcription factor-1 α , HIF-1 α)是成血管-成骨级联反应启动所必需的因素,是协调成血管-成骨耦联基因程序的主要调节物。当局部缺血、缺氧时,HIF-1 α 、VEGF、PDGF-BB等促血管生成因子表达以激活ECs^[35]。与此同时,缺氧细胞向血管元件发出信号,以确保发育中血管系统的适当分化。成骨细胞、骨细胞和ECs含有必需的细胞元件以感知和响应组织中氧气张力的变化,并在时间和空间上协调骨生成^[1]。在软骨内化骨过程中,软骨内骨生长板的间充质浓缩阶段即是缺氧状态并且表达HIF-1 α ^[36],而HIF-1 α 的缺失可导致肥大软骨细胞VEGF表达下降,这表明肥大软骨细胞产生VEGF也可能受HIF-1 α 机制的调控。此外,HIF-1 α 刺激微环境中产生VEGF,先是VEGF在软骨膜中表达,刺激软骨膜血管发生,随后在增生性软骨中VEGF表达升高从而引发血管侵入软骨,继而为软骨内化骨后续过程奠定血运基础。除此之外,成骨细胞也表达HIF途径的组分,并在长骨形成过程中促进骨骼血管生成。这些研究表明缺氧是骨生成过程中诱导血管生成的主要驱动力,而HIF-1 α 转录因子和其靶基因VEGF是成血管-成骨耦联的关键调节因子。研究证实HIF-1 α 对H型ECs诱导起着关键作用,通过维持HIF-1 α 活性可促进H型ECs的生成,并可提高成骨细胞分泌成血管因子的能力从而促进H型血管生成^[37]。

2 成血管-成骨耦联调节细胞

2.1 内皮细胞

血管与骨在物理和生物化学上存在密切联系,遗传学、生物化学和药理学研究已经证实骨生成和修复期间ECs和成骨细胞存在相互作用。血管生成与骨生成相互耦联,也表明ECs和成骨细胞之间存在信号调控间的分子串话^[38]。而ECs是血管

最重要的组成部分之一,在成熟的血管系统中ECs在维持周围组织的稳态起关键作用,既为邻近组织提供交流网络,又能在需要时作为屏障来限制分子和细胞的运动^[15]。此外,ECs在维持骨稳态方面同样扮演重要角色,不仅可作为高通透性屏障起作用,还可分泌活性因子促使包括造血细胞在内的循环细胞被募集到骨内。更为重要的是,Maes等^[11]发现的高度特异性的H型ECs在骨局部微环境中可以生成特异性H型血管介导循环细胞,同时促进氧气、营养物和废物的传输,还能介导成骨细胞、骨细胞、破骨细胞和血管ECs之间的相互作用,释放血管分泌信号调控成骨作用和骨平衡^[39-40]。在成骨过程中,ECs侵入生长板区域的软骨形成一个用于营养供应的血管通道,并作为新骨形成的支架^[41]。新生成血管可确保成骨细胞前体和破骨细胞稳定转运至重塑部位,有助于进一步促进骨吸收和骨生成。除此之外,ECs易受到低氧、机械或VEGF的影响,在骨修复过程中,由于骨折后血液供应遭到破坏,氧气供应中断和周围组织的急性坏死在受伤的缝隙周围形成低氧环境,这种缺氧环境诱导成骨细胞产生HIF-1 α 等调节因子,继而影响ECs增殖、分化,并诱导ECs分泌成骨生长因子反作用于成骨细胞。血管和骨骼内的ECs还可以调节骨祖细胞转移到骨折部位促进骨修复,并可促进循环细胞特别是造血细胞对骨髓的调节,将它们定向转移到骨骼区域。而当ECs功能异常引起骨组织血管供应发生改变时,则会出现骨质疏松症、骨折延迟愈合甚至骨不连等骨骼病变。

2.2 内皮祖细胞

内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)是在骨髓和外周血中循环的另一类细胞群体,具有比成熟的ECs更强的增殖能力。研究发现EPCs能够在体外培养出EC并促进血管网络的形成,而EPCs介导的血管形成是骨生成或修复不可或缺的关键因素^[42]。骨生长发育过程中新血管形成主要通过血管生成和血管发生两种方式,EPCs对以上两种方式都有积极作用。其中血管发生是指在没有预先存在的血管成分情况下,通过局部或循环EPCs的分化发生^[43],这表明EPCs在血管形成中扮演着重要角色。此外,EPCs可通过旁分泌机制诱导骨祖细胞的募集、增殖和分化,并在适当的微环境中转化为成骨细胞促进成骨作用^[44]。Lee等^[45]发现在大鼠牵张成骨模型中EPCs移动到缺损愈合部位的现象明显增加。Ateok等^[46]证实EPCs在骨折愈合过

程中引发新血管生成和新骨生成,自体 EPCs 移植可以促进临界尺寸缺损的血管生成和骨生成。

2.3 壁细胞

壁细胞,即骨内包含的血管周围间充质细胞群,主要分布在血管周围,其在调节造血、骨生成和血管稳态中发挥重要的功能作用。在 H 与 L 型血管周围存在着大量的多种类型的壁细胞。其中在干骺端的柱状 H 型毛细血管被血小板衍生生长因子受体 β (platelet-derived growth factor receptor- β , PDGFR- β) 阳性细胞和神经/胶质抗原-2 (neurogia -2, NG-2) 细胞包围,这些壁细胞被 H 型 ECs 分泌的 PDGF-B 所调控^[47],在血细胞生成、骨生成和血管稳态调节中起重要功能作用。而 L 型窦状血管则被另外两种壁细胞包围,一种是对瘦素受体 (leptin receptor, LEPR) 表达阳性的 LEPR+ 细胞,另一种是富含 CXCL-12 的网状细胞 (CXCL-12-abundant reticular, CAR),但对 PDGFR- β 和 NG2 表达呈阴性^[48]。研究表明^[49] 这些壁细胞聚集在 H 与 L 型血管周围,通过分泌 CXCL-12、干细胞因子和血管生成素等分子信号增强了成血管与成骨之间的密切联系和相互作用。

3 成血管-成骨耦联相互作用

ECs 和成骨细胞以及成骨细胞前体空间结构上的紧密联系,既保证了二者之间进行物质交换,同时也为二者之间进行信号交流、发挥协同作用奠定了基础。Maes 等^[38] 在由他莫昔芬诱导的转基因 Rosa26R-LacZ 受体小鼠实验中发现成骨细胞前体利用血管作为支持它们迁移的通道并沿着内皮的近腔表面进入骨骼,在迁移过程中血管转输而来的营养物质以及活性因子不断作用成骨细胞前体促进其逐渐向成骨细胞转化,而成骨细胞以周细胞样的方式侵入膜内血管并和 ECs 被吸引到同一个由肥大细胞产生并表达特殊化学引诱物的软骨,继而将 ECs 生成的血管“拉入”到无血管的软骨中促进软骨内成骨。最新的两篇文献^[50-51] 也证实了 H 型血管可增强成血管-成骨耦联作用,对促进新骨生成以及防治骨质疏松症具有重要意义。一方面 H 型血管能够产生独特的代谢和分子微环境,既能运送成骨前体细胞至特定位置,又可以释放血管分泌信号和骨生成分子进行连接,介导成骨细胞系细胞与血管 ECs 之间的相互作用^[14,52]。此外, H 型 ECs 可与骨祖细胞相接触,富集与骨祖细胞存活和增殖相关的生长因子,维持骨祖细胞的数量和活性促进成

骨细胞增殖、分化。而另一方面,成骨细胞又是骨中造血微环境中的重要组成部分,Rankin 等^[53] 发现成骨细胞中 HIF 的失活导致促红细胞生成素 (erythropoietin, EPO) 在骨骼中表达降低,而增强 HIF 活性可上调骨髓中造血干细胞和骨祖细胞的功能活性,通过调节成骨细胞中 PHD/VHL/HIF 通路可促进 EPO 分泌和调节红细胞生成。同时,成骨细胞中过表达 HIF 可使 VEGF 含量水平升高并形成血管化极其致密丰富的骨骼,而 VEGF 等生长因子信号又可以通过 PI3K/AKT 途径激活成骨细胞中的 HIF 活性,继而促进血管生成和骨生成^[54]。除此之外,骨细胞也能产生吸引血管朝向代谢活跃区域发展的局域性生长因子。骨发育过程中肥大软骨细胞可释放信号刺激软骨痂的新血管生成,然后肥大软骨细胞凋亡,破骨细胞募集引发骨痂重塑及其编织骨被取代,最终被矿化以充分支持骨骼的机械需求。而如果抑制血管生成则会阻碍成骨细胞替代软骨细胞,在骨折愈合过程中则会出现组织中大量软骨细胞而非成骨细胞聚积。同理, H 型 ECs 如果生成减少或 PDGF-BB 分泌下降则会导致骨生成减少而骨吸收增加,骨生成和吸收之间出现紊乱的现象,继而导致骨量流失、骨矿密度下降、骨质疏松症等问题^[14,29,37]。

4 结语及展望

综上所述,在骨生长发育及维持骨量平衡过程中,血管与骨之间密切相关,成血管-成骨耦联涉及诸多生长因子、细胞和调控作用。血管对于骨骼的意义不仅体现在为骨生长和修复发挥氧气、营养物质、生长因子、代谢废物的转输作用,更为重要的是分泌因子、信号传递、功能调控等方面,而成骨细胞、骨细胞等对血管生成具有调节作用。与以往成骨细胞与破骨细胞功能耦联的二元调控机制相比,血管 ECs 在其中的协调作用也同样重要。然而,当前有关成血管-成骨耦联机制的研究尚不够深入,尤其是 H 型 ECs 在各种生理和病理环境中的具体作用尚未被完全阐明,而了解血管生成和骨生成之间的耦联关系将为探究骨疾病机理以及指导治疗提供新的思路和策略。

【参考文献】

- [1] 林上进,程群.内皮祖细胞与骨折愈合[J].国际骨科学杂志, 2016,37(1):31-35.
- [2] Coultas L, Chawengsaksothak K. Endothelial cells and VEGF in

- vascular development[J]. *Nature*, 2005, 438(7070):937-945.
- [3] Dirckx N, Van Hul M. Osteoblast recruitment to sites of bone formation in skeletal development, homeostasis, and regeneration [J]. *Birth Defects Res C Embryo Today*, 2013, 99(3):170-191.
 - [4] He X, Dziak R, Yuan X, et al. BMP2 genetically engineered MSCs and EPCs promote vascularized bone regeneration in rat critical-sized calvarial bone defects[J]. *PLoS One*, 2013, 8(4):e60473.
 - [5] 董晤讯,袁翰,马勇,等.骨血管生成机制与功能的研究进展[J]. *中国现代医学杂志*, 2017, 27(27):51-58.
 - [6] Chim SM, Tickner J, Chow ST, et al. Angiogenic factors in bone local environment [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2013, 24(3):297-310.
 - [7] 单宇,王亮,张敏,等.铁蓄积、骨内血管与骨质疏松关系的研究进展[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2017, 23(7):954-957, 962.
 - [8] 王晓燕,李冠武,常时新.三七总皂苷通过血管生成改善绝经后骨质疏松机制探析[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2014, 20(8):964-967, 977.
 - [9] Sojo K, Sawaki Y, Hattori H, et al. Immunohistochemical study of vascular endothelial growth factor (VEGF) and bone morphogenetic protein-2, -4 (BMP-2, -4) on lengthened rat femurs[J]. *J Craniomaxillofac Surg*, 2005, 33(4):238-245.
 - [10] Eghbali-Fatourehchi GZ, Lamsam J, Fraser D, et al. Circulating osteoblast-lineage cells in humans [J]. *N Engl J Med*, 2005, 352(19):1959-1966.
 - [11] Maes C. Role and regulation of vascularization processes in endochondral bones[J]. *Calcif Tissue Int*, 2013, 92(4):307-323.
 - [12] Schipani E, Maes C, Carmeliet G. Regulation of osteogenesis-angiogenesis coupling by HIFs and VEGF[J]. *J Bone Miner Res*, 2009, 24(8):1347-1353.
 - [13] 陈琼,王亮.微循环与骨质疏松的关系[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2017, 23(8):1086-1089, 1099.
 - [14] Kusumbe AP, Ramasamy SK. Coupling of angiogenesis and osteogenesis by a specific vessel subtype in bone [J]. *Nature*, 2014, 507(7492):323-328.
 - [15] Kanczler JM, Oreffo ROC. Osteogenesis and angiogenesis: the potential for engineering bone [J]. *Eur Cell Mater*, 2008, 15:100-114.
 - [16] Ramasamy SK, Kusumbe AP, Wang L. Endothelial notch activity promotes angiogenesis and osteogenesis in bone [J]. *Nature*, 2014, 507(7492):376-338.
 - [17] Maes C, Goossens S, Bartunkova S, et al. Increased skeletal VEGF enhances b-catenin activity and results in excessively ossified bones[J]. *EMBO J*, 2010, 29(2):424-441.
 - [18] Ferrara N, Gerber HP. The biology of VEGF and its receptors[J]. *Nat Med*, 2003, 9(6):669-676.
 - [19] Storkebaum E. VEGF: a critical player in neurodegeneration[J]. *J Clin Invest*, 2004, 113(1):14-18.
 - [20] Tammela T, Enholm B, Alitalo K. The biology of vascular endothelial growth factors [J]. *Cardiovasc Res*, 2005, 65(3):550-563.
 - [21] Rossant J. Signaling pathways in vascular development[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2002, 18:541-573.
 - [22] Hu K, Olsen BR. Osteoblast-derived VEGF regulates osteoblast differentiation and bone formation during bone repair[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(2):509-526.
 - [23] Zelzer E, McLean W, Ng YS, et al. Skeletal defects in VEGF (120/120) mice reveal multiple roles for VEGF in skeletogenesis [J]. *Development*, 2002, 129:1893-1904.
 - [24] Geiger F, Bertram H, Berger I, et al. Vascular endothelial growth factor gene-activated matrix (VEGF165-GAM) enhances osteogenesis and angiogenesis in large segmental bone defects [J]. *J Bone Miner Res*, 2005, 20(11):2028-2035.
 - [25] Siegen S, Gastel NV, Carmeliet G. Bringing new life to damaged bone: the importance of angiogenesis in bone repair and regeneration[J]. *Bone*, 2015, 70(1):19-27.
 - [26] 展嘉文,朱立国,王尚全,等.血管内皮生长因子及其受体在离体培养椎体终板退变过程中的表达[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2018, 26(7):7-10.
 - [27] Huang B, Wang W, Li Q, et al. Osteoblasts secrete Cxcl9 to regulate angiogenesis in bone[J]. *Nat Commun*, 2016, 7:13885.
 - [28] Sanchez-Fernandez MA, Gallois A, Riedl T, et al. Osteoclasts control osteoblast chemotaxis via PDGF-BB/PDGF receptor beta signaling[J]. *PLoS One*, 2008, 3(10):e3537.
 - [29] Xie H, Cui Z, Wang L, et al. PDGF-BB secreted by preosteoclasts induces angiogenesis during coupling with osteogenesis [J]. *Nat Med*, 2014, 20(11):1270-1278.
 - [30] Ping YC, Shan L, Yan W, et al. Preservation of type H vessels and osteoblasts by enhanced preosteoclast platelet-derived growth factor type BB attenuates glucocorticoid-induced osteoporosis in growing mice[J]. *Bone*, 2018, 114:1-13.
 - [31] Caplan AI. PDGF in bone formation and regeneration: new insights into a novel mechanism involving MSCs [J]. *J Orthop Res*, 2011, 29(12):1795-1803.
 - [32] Massague J, Blain SW, Lo RS. TGF- β signaling in growth control, cancer, and heritable disorders [J]. *Cell*, 2000, 103(2):295.
 - [33] Tang Y, Wu X, Lei W, et al. TGF- β 1-induced migration of bone mesenchymal stem cells couples bone resorption with formation [J]. *Nat Med*, 2009, 15(7):757-765.
 - [34] Crane JL, Xian L, Cao X. Role of TGF-beta signaling in coupling bone remodeling[J]. *Methods Mol Biol*, 2016, 1344:287-300.
 - [35] 王继猛.骨损伤修复中H型血管的分布和作用及血管束神经束联合植入组织工程骨修复羊大腿胫骨缺损的研究[D].西安:第四军医大学, 2017.
 - [36] Provot S, Zinyk D, Gunes Y, et al. Hif-1 α regulates differentiation of limb bud mesenchyme and joint development[J]. *J Cell Biol*, 2007, 177:451-464.
 - [37] Yang M, Li CJ, Sun X, et al. MiR-497 ~ 195 cluster regulates angiogenesis during coupling with osteogenesis by maintaining endothelial notch and HIF-1 α activity [J]. *Nat Commun*, 2017, 8:16003.
 - [38] Maes C, Kobayashi T, Selig MK, et al. Osteoblast precursors, but not mature osteoblasts, move into developing and fractured bones along with invading blood vessels [J]. *Dev Cell*, 2010, 19(2):

- 329-344.
- [39] Ding L, Saunders TL, Enikolopov G. Endothelial and perivascular cells maintain haematopoietic stem cells [J]. *Nature*, 2012, 481 (7382):457-462.
- [40] Wang J, Gao Y, Cheng P, et al. CD31hi emcnhi vessels support new trabecular bone formation at the frontier growth area in the bone defect repair process[J]. *Sci Rep*, 2017, 7:4990.
- [41] Portal-Núñez S, Lozano D. Role of angiogenesis on bone formation [J]. *Histol Histopathol*, 2012, 27(5):559-566.
- [42] Rafii S. Therapeutic stem and progenitor cell transplantation for organ vascularization and regeneration[J]. *Nat Med*, 2003, 9(6):702-712.
- [43] Yazar S, Lin CH, Lin YT, et al. Outcome comparison between free muscle and free fasciocutaneous flaps for reconstruction of distal third and ankle traumatic open tibial fractures[J]. *Plast Reconstr Surg*, 2006, 117(7):2468-2475.
- [44] Kado M, Lee JK, Hidaka K, et al. Paracrine factors of vascular endothelial cells facilitate cardiomyocyte differentiation of mouse embryonic stem cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 377(2):413-418.
- [45] Lee DY, Cho TJ, Kim JA, et al. Mobilization of endothelial progenitor cells in fracture healing and distraction osteogenesis [J]. *Bone*, 2008, 42(5):932-941.
- [46] Atesok K, Li R, Stewart DJ. Endothelial progenitor cells promote fracture healing in a segmental bone defect model[J]. *J Orthop Res*, 2010, 28(8):1007-1014.
- [47] Kusumbe AP, Ramasamy SK, Itkin T, et al. Age-dependent modulation of vascular niches for haematopoietic stem cells [J]. *Nature*, 2016, 532(7599):380-384.
- [48] Ding L, Saunders TL, Enikolopov G. Endothelial and perivascular cells maintain haematopoietic stem cells [J]. *Nature*, 2012, 481 (7382):457-462.
- [49] Mendelson A. Hematopoietic stem cell niche maintenance during homeostasis and regeneration [J]. *Nat Med*, 2014, 20(8):833-846.
- [50] Huang J, Yin H, Rao SS, et al. Harmine enhances type H vessel formation and prevents bone loss in ovariectomized mice [J]. *Theranostics*, 2018, 8(9):2435-2446.
- [51] Yang P, Lv S, Wang Y, et al. Preservation of type H vessels and osteoblasts by enhanced preosteoclast platelet-derived growth factor type BB attenuates glucocorticoid-induced osteoporosis in growing mice[J]. *Bone*, 2018, 114:1-13.
- [52] Sivaraj KK, Adams RH. Blood vessel formation and function in bone[J]. *Development*, 2016, 143(15):2706-2715.
- [53] Rankin EB, Wu C, Khatri R, et al. The HIF signaling pathway in osteoblasts directly modulates erythropoiesis through the production of EPO[J]. *Cell*, 2012, 149(1):63-74.
- [54] Wang Y, Wan C, Deng LF, et al. The hypoxia-inducible factor α pathway couples angiogenesis to osteogenesis during skeletal developme[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117:1616-1626.

(收稿日期: 2018-07-24;修回日期: 2018-08-11)